

Système de détection moléculaire 3M^{MC} : Protocole de surveillance et de nettoyage des amplicons environnementaux

Les méthodes de détection moléculaire, comme le Système de détection moléculaire 3M^{MC}, sont très sensibles et les réactions d'amplification utilisées dans les méthodes de détection moléculaires peuvent se traduire par des millions de copies d'ADN (appelées des amplicons). Une technique inadéquate et le non-respect des bonnes pratiques de laboratoire peuvent entraîner de faux positifs en raison de la contamination croisée avec l'ADN microbien. Les préoccupations spécifiques comprennent la contamination croisée avant le début de l'analyse de détection (généralement avant l'amplification) et la contamination croisée après l'amplification.

La contamination croisée peut survenir sur les surfaces de laboratoires, le matériel, le poste de travail, les pipettes, etc. La décontamination régulière de ce matériel et de ces surfaces de travail dans le but de réduire les risques de contamination par les amplicons est fortement recommandée et constitue une pratique exemplaire pour tous les laboratoires moléculaires ou de microbiologie. L'usage de désinfectants comme des agents de blanchiment¹, le peroxyde et des solutions permettant d'éliminer l'ADN offertes dans le commerce permettront de réduire le risque de contamination croisée depuis ces surfaces.

Les directives d'utilisation du Système de détection moléculaire 2 3M^{MC} énoncent les pratiques exemplaires pour remédier aux risques de contamination croisée qui peuvent survenir et pour en réduire l'occurrence. Veuillez vous référer au [3m.com/3M/en_US/food-safety-us/support/package-inserts/](https://www.3m.com/3M/en_US/food-safety-us/support/package-inserts/) pour obtenir les versions les plus à jour des directives d'utilisation.

Le guide suivant décrit les étapes de la détection des amplicons environnementaux et énonce des recommandations pour la décontamination des laboratoires à l'aide d'un agent de blanchiment.

Surveillance d'amplicons environnementaux

Un examen qui cible la contamination par les amplicons jumelé à un protocole de décontamination régulier et de bonnes pratiques en laboratoire permettent de réduire le risque d'une contamination par les amplicons.

1. Préparation

a) Planifier et consigner les zones à écouvillonner

Remarque : Les zones suggérées comprennent les zones de contact (clavier, poignées d'armoire / de porte), les outils (pipette, outils d'ouverture et de fermeture du Système de détection moléculaire 3M^{MC}) et les surfaces (dessus de table, Appareil de détection moléculaire 3M^{MC})

b) Configurer le Logiciel de détection moléculaire 3M^{MC} selon la disposition désirée.

c) Préparer un support pour lyse avec les éprouvettes de Solution de lyse 3M^{MC} pour chaque zone qui sera analysée.

Remarque : Des éprouvettes supplémentaires sont nécessaires pour humidifier l'écouvillon et maintenir le volume initial des éprouvettes de Solution de lyse 3M^{MC} à 500 µL pour l'analyse

2. Matériaux

- a) Cotons-tiges stériles.
- b) Éprouvettes de Solution de lyse 3M^{MC}.
- c) Analyse par détection moléculaire 2 3M^{MC} pour les méthodes actuellement utilisées en laboratoire.
- d) Témoin matriciel pour analyse par détection moléculaire 3M^{MC} (facultatif : 1 par écouvillon).
- e) Appareil de détection moléculaire 3M^{MC} et outils d'ouverture et de fermeture des éprouvettes.
- f) Pipette calibrée capable de distribuer 20 µL.
- g) Embouts de pipetteur à filtre de type biologie moléculaire résistants aux aérosols (filtrés) et stériles.

3. Échantillonnage

- a) Ouvrir les éprouvettes de Solution de lyse 3M^{MC}. Garder des éprouvettes de solution de lyse séparées pour humidifier l'écouvillon avant d'échantillonner une zone.
- b) Retirer un écouvillon de son emballage.
- c) Humidifier l'écouvillon en le submergeant dans une éprouvette de Solution de lyse 3M^{MC}. La même éprouvette de solution de lyse peut être utilisée pour humidifier différents écouvillons afin d'échantillonner plusieurs zones.
- d) Écouvillonner une zone cible (environ 6 x 6 po) dans un mouvement de va-et-vient en tournant l'écouvillon.
- e) Faire tourner l'écouvillon et écouvillonner de façon perpendiculaire pour les premières passes.
- f) Insérer l'écouvillon dans une nouvelle éprouvette de Solution de lyse 3M^{MC}.
- g) Agiter l'écouvillon dans le liquide pendant 20 secondes pour libérer l'échantillon recueilli dans la Solution de lyse 3M^{MC}.
- h) Presser l'embout de l'écouvillon sur les parois de l'éprouvette afin d'extraire autant de Solution de lyse 3M^{MC} que possible.
- i) Jeter l'écouvillon.
- j) Répéter les étapes pour chaque zone à analyser.

4. Analyse

- a) Mettre le support contenant les éprouvettes de Solution de lyse 3M^{MC} dans une pièce de bloc thermique pour détection moléculaire 3M^{MC} à 100 °C ± 1 °C et faire chauffer pendant 15 minutes.
- b) Retirer le support d'éprouvettes de Solution de lyse 3M^{MC} de la pièce de bloc thermique.
- c) Placer le support dans la Pièce de bloc réfrigérant pour détection moléculaire 3M^{MC} pendant 5 minutes.
- d) Transférer 20 µl de chaque échantillon de lyse dans des Éprouvettes de réactif pour analyse par détection moléculaire 3M^{MC}.
Remarque : Le témoin positif sert de contrôle positif.
- e) Mélanger en pipettant délicatement de haut en bas cinq fois.
- f) Sceller les Éprouvettes de réactif pour analyse de détection moléculaire 3M^{MC} à l'aide de capuchons.
- g) Transférer les éprouvettes fermées vers le Plateau de chargeur rapide pour détection moléculaire 3M^{MC}.
- h) Passer en revue et confirmer l'essai configuré dans le Logiciel de détection moléculaire 3M^{MC}.
- i) Cliquer sur le bouton Démarrer dans le logiciel et sélectionner l'appareil à utiliser. Le couvercle de l'appareil sélectionné s'ouvre automatiquement.
- j) Mettre le Plateau de chargeur rapide pour détection moléculaire 3M^{MC} dans l'Appareil de détection moléculaire 3M^{MC}, puis fermer le couvercle pour démarrer l'essai.
- k) Identifier les zones de contamination par amplicons selon les résultats positifs des Analyses par détection moléculaire 3M^{MC}.

Les renseignements suivants fournissent des recommandations lorsqu'un agent de blanchiment est utilisé pour décontaminer des surfaces de laboratoires, du matériel, des postes de travail, des pipettes, etc.

Préparation de la solution d'agent de blanchiment pour la décontamination de 1 à 5 % (V:V)

- Les formules d'agent de blanchiment typiques pour usage domestique (vente au détail) contiennent environ 5,25 % d'hypochlorite de sodium (le pourcentage peut varier selon la marque).
- Conserver l'agent de blanchiment hermétiquement fermé, à l'abri de la lumière et à température ordinaire. La décomposition de l'agent de blanchiment est catalysée par une forte température, la lumière et l'oxygène. Lorsqu'il est entreposé correctement, l'agent de blanchiment peut durer au moins six mois, selon la marque. Se référer à la date d'expiration imprimée sur le contenant.

Remarque : Les agents de blanchiment à usage domestique / régulier, les agents de blanchiment réguliers, etc. sont d'environ 5,25 % (52 500 ppm). Si vous diluez le produit de 1 à 5 % (V:V), la concentration de l'agent de blanchiment sera de 525 à 2 625 ppm de concentration active d'agent de blanchiment. Il est recommandé d'utiliser une dilution de 1 dans 100 (1 % V:V) à une dilution de 1 dans 20 (5 % V:V) qui donne à l'agent de blanchiment actif une concentration de 525 à 2 625 ppm, respectivement, selon un agent de blanchiment ayant un ingrédient actif de 5,25 %.

- Préparer une solution d'agent de blanchiment de 1 à 5 % en ajoutant la quantité nécessaire d'agent de blanchiment dans l'eau (Tableau 1).
- L'eau dure réduira considérablement le chlore libre / présent; utiliser de l'eau distillée pour préparer une solution d'agent de blanchiment de 1 à 5 %.
- Pendant la manipulation de l'agent de blanchiment, il est important d'utiliser l'équipement de protection individuel (EPI) approprié comme des gants, des lunettes à coques et une blouse de laboratoire.
- La durée de conservation de la solution diluée est d'environ 24 heures. Préparer une nouvelle solution tous les jours.

Tableau 1. Concentration de l'agent de blanchiment

Solution d'agent de blanchiment	Concentration de la solution d'agent de blanchiment (ml) *	Eau (ml)	(%) Concentration active d'agent de blanchiment	Agent de blanchiment (ppm)
1 % (v:v)	1	99	0,0525	525
2 % (v:v)	2	98	0,1050	1050
3 % (v:v)	3	97	0,1575	1575
4 % (v:v)	4	96	0,2100	2100
5 % (v:v)	5	95	0,2625	2625

* Concentration active d'agent de blanchiment : 5,25 % d'hypochlorite de sodium

Nettoyage avec une solution de décontamination de 1 à 5 % utilisée en laboratoire

- Pour décontaminer une zone de travail, l'équipement ou les outils, il faut appliquer la solution d'agent de blanchiment à un essuie-tout et essuyer la zone en mouillant soigneusement la surface extérieure.
- Laisser reposer le tout, toujours mouillé, pendant 10 minutes, puis retirer l'agent de blanchiment avec un essuie-tout mouillé dans l'eau pour éviter la corrosion des surfaces et l'interférence avec l'analyse.

Serviettes à l'eau de Javel désinfectantes pour la décontamination

- Une option de rechange utile pour la préparation quotidienne d'une solution d'agent de blanchiment de 1 à 5 % est l'utilisation de serviettes à l'eau de Javel comme les serviettes à l'eau de Javel désinfectantes pour usage professionnel de Clorox® Healthcare (Cloroxprofessional.com/products/clorox-healthcare-bleach-germicidalwipes/at-a-glance/).
- Il faut s'assurer que la concentration active d'agent de blanchiment dans les serviettes est la même que celle utilisée pour la préparation de la solution d'agent de blanchiment, soit de 1 à 5 % V:V.
- La concentration des serviettes à l'eau de Javel commerciales demeure stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur le contenant tant que le contenant est maintenu fermé et que les serviettes restent mouillées.
- Pour décontaminer le matériel et les outils, il suffit de passer soigneusement la serviette sur la surface extérieure de manière à la mouiller, **puis de laisser la solution en place pendant 10 minutes.**
- Essuyer ensuite la surface à l'aide d'un essuie-tout mouillé dans l'eau pour éviter la corrosion de la surface et l'interférence avec l'analyse.

Bibliographie

1. Champlot, S., Berthelot, C., Pruvost, M., Bennett, E.A., Grange, T., Geigl, E. (2010). « An efficient multistrategy DNA decontamination procedure of PCR reagents for hypersensitive PCR applications. », PLoS ONE, vol. 5, n° 9, e13042.

